

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В данной работе получены результаты, подтверждающие, что схема с мультиплексным объединением пакетов увеличивает емкость сети стандарта IEEE 802.11 в два раза в исследуемых кодеках. Максимальное количество VoIP сессий в IEEE 802.11b в обычном случае составляет 14, и 38 при использовании модели с переменным битрейтом. Наличие TCP соединения в беспроводной сети способно уменьшить максимальное количество VoIP соединений на 25-30%, также ведет к возрастанию задержек. Показано, что данное улучшение достигается без вмешательства в MAC протокол. Теоретические расчеты были подтверждены результатами моделирования в среде симулятора NS-2.

## **Литература**

1. *Frank O.* Voice over 802.11. British Library. ISDN: 1-58053-677-8. 2004.
2. *Brady P.* A Model for Generating On-Off Speech Patterns in Two-Way Conversation // Bell Syst. Tech. Journal. Sept. 1969. V. 48. No. 7. P. 2245–2272.
3. *Bai Y., Ito M. R.* A study for providing better quality of Services to VoIP Users // IEEE AINA06.
4. The Network Simulator – NS-2. Интернет-адрес: [www.isi.edu/nsnam/ns/](http://www.isi.edu/nsnam/ns/)

## **РАЗРАБОТКА МОДЕЛИ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ КОРРЕЛЯЦИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ**

**А. В. Сиволобов**

## **ВВЕДЕНИЕ**

Исследование кинетики спектров флуоресценции позволяет изучать множество структурных и динамических свойств молекулярных систем, таких как микровязкость, вращательная диффузия, концентрация, размер молекул и др. Анализируя спектр испускания, можно получить информацию о ближайшем окружении флуорофора.

Причиной растущей популярности флуоресцентных исследований является сочетание высокой чувствительности данных методов с подходящим временным диапазоном между поглощением и переиспусканием кванта энергии ( $\approx 10$  нс). За этот промежуток времени может произойти множество различных молекулярных процессов, которые способны повлиять на спектральные характеристики флуорофоров. Достоинством флуоресцентной спектроскопии является также очень низкая инвазивность по отношению к образцу. В отличие от неоптических методов, например электронной микроскопии, флуоресцентно-спектроскопические методы позволяют работать с живыми клетками. Это один из основных факторов, предопределивших их развитие. Метод ICS (Image Correlation

Spectroscopy), о котором пойдет речь далее, изначально разрабатывался для исследования клеточных мембран [1]. Данный метод позволяет исследовать вещество на молекулярном уровне.

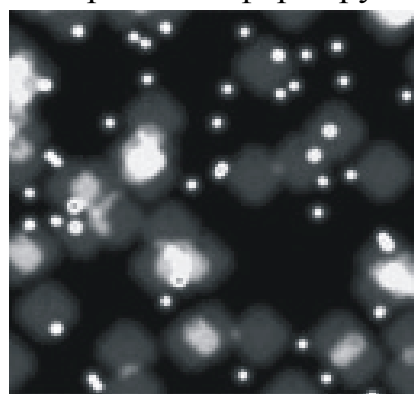
Для нахождения оценок свойств вещества требуется разработка модели, соединяющей параметры вещества с регистрируемой экспериментальной характеристикой. Таким образом, целью работы является разработка теоретической модели пространственной корреляционной спектроскопии для анализа данных, полученных по методу пространственного сканирования неподвижной пробы [2] и разработка алгоритма вычисления пространственной автокорреляционной функции.

### **ПРОСТРАНСТВЕННАЯ КОРРЕЛЯЦИОННАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ**

Метод ICS был разработан для изучения распределения молекул в мембранах и расчета их концентрации. Прежде необходимо очертить границы области применимости данного метода. Метод позволяет получать информацию о размере и количестве молекулярных агрегатов, причем этот размер должен быть не меньше чем характеристический радиуса точечной функции распределения для данного лазера. Исследуемый образец должен быть неподвижен, что справедливо только для однократного сканирования. ICS – это двумерный метод: мембрана должна быть плоской, и все ее частицы должны находиться в фокусе. ICS – это статический метод: скорость диффузии в веществе должна быть низкой.

Метод основан на пространственном корреляционном анализе флуктуаций интенсивности флуоресценции в исследуемом образце. Благодаря ЛСМ (лазерному сканирующему микроскопу) можно достаточно быстро просканировать плоскость в образце и попиксельно сформировать изображение, где каждый пиксель содержит информацию о происходящем процессе в объеме порядка 1 фемтолитра. По мере того, как лазер сканирует интересующую нас плоскость, конечное изображение формируется пиксель за пикселем. Пример представлен на рисунке 1.

В эксперименте используется конфокальный ЛСМ. Излучение лазера фокусируется объективом на исследуемом образце, и излучение флуоресценции собирается из него посредством того же объектива. Разделение возбуждающего и регистрируемого излучений достигается за счет использования полупрозрачного зеркала, которое избирательно отражает излучение с разными длинами волн. Излучение лазера,



*Рис. 1. Изображение, полученное с помощью лазерного сканирующего микроскопа*

характеризующееся меньшей длиной волны, пропускается зеркалом, в то время как излучение флуоресценции, сдвинутое в область больших длин волн, удерживается (стоксов сдвиг). Луч пробегает заданную горизонтальную плоскость благодаря одному или более осциллирующим зеркалам с сервоприводом. В качестве детектора может использоваться фотомножитель, лавинный фотодиод или ПЗС матрица [3].

В методе ICS рассчитывается двумерная автокорреляционная функция  $g(\xi, \eta)$  из экспериментально полученного изображения. Для повышения контрастности корреляционного изображения рассчитывается АКФ не самой интенсивности, а ее флуктуаций. Флуктуация интенсивности  $\delta I(x, y)$  определяется как отклонение ее значения в данном пикселе от среднего значения по изображению  $\delta I(x, y) = I(x, y) - \langle I(x, y) \rangle$ . Это позволяет более точно обрабатывать область, где  $g(\xi, \eta)$  принимает максимальное значение. Именно она и ее окрестность несет основной статистический смысл. Анализируя  $g(\xi, \eta)$ , можно получить концентрацию и размер молекул вещества. Особенность АКФ в том, что по определению:

$$g(\xi, \eta) = \frac{\langle \delta I(x, y) \delta I(x + \xi, y + \eta) \rangle}{\langle \delta I(x, y)^2 \rangle} \quad (1)$$

где  $I(x, y)$  - интенсивность флуоресценции молекул в фокальном объеме, соответствующем пикселю  $(x, y)$  на изображении. Из статистической механики известно, что для идеальной системы:

$$\text{var } \delta I(x, y) = \lim_{\xi \rightarrow 0, \eta \rightarrow 0} g(\xi, \eta), \quad (2)$$

где  $\langle N \rangle$  - среднее число флуоресцирующих частиц в исследуемом объеме. Формула (2) описывает так называемый эффект «количества частиц». Он заключается в том, что острота профиля  $g(\xi, \eta)$  увеличивается с уменьшением количества наблюдаемых частиц. Формула (2) может рассматриваться как простейшая модель пространственной корреляционной спектроскопии, так как она позволяет оценивать искомую концентрацию молекул из измеренной пространственной АКФ.

Математической основой для расчета пространственной АКФ является формула (3):

$$\lim_{\xi \rightarrow 0, \eta \rightarrow 0} g(\xi, \eta) = \frac{1}{\langle N \rangle}, \quad (3)$$

Аргументы АКФ  $\xi$  и  $\eta$  задают смещения копии изображения относительно оригинала. Получаемая в результате сумма произведений соответствующих пикселей оригинала и сдвинутой копии дает значение  $g(\xi, \eta)$ . Функция  $g(\xi, \eta)$  также характеризуется свойством симметрии, в том смысле, что для каждой координаты  $\xi, \eta$  важен модуль смещения, а

не его направление[4]. Значит, нет необходимости рассчитывать  $g(\xi, \eta)$  для отрицательных значений аргументов, а достаточно рассчитать только один квадрант (например, первый). Далее значения копируются путем отражения квадранта, относительно горизонтальной и вертикальной осей, пересекающихся в центре изображения.

Расчет  $g(\xi, \eta)$  «в лоб» очень ресурсоемок, так как в нем фигурирует 4-х кратный вложенный цикл. Это ограничивает исследователя в возможности повышать разрешение изображения. Расчет  $g(\xi, \eta)$  может быть ускорен путем использования алгоритма быстрого преобразования Фурье. Согласно следствию *теоремы* о свертке, Фурье-образ АКФ равен спектральной плотности мощности изображения:

$$g(\varepsilon, \eta) = F^{-1} \{ [F(\delta I(x, y))] * [F^*(\delta I(x, y))] \}, \quad (4)$$

где  $F(\delta I(x, y))$  - Фурье-образ функции флуктуации интенсивности.

После того, как получена функция  $g(\xi, \eta)$ , можно делать выводы о концентрации флуоресцентно помеченных молекул и их размере, при наличии соответствующей информации о масштабе изображения. Например, для изображения представленного на рисунке 1, средняя концентрация флуоресцирующих частиц, согласно формуле (2), равна 0,66 частиц в объеме конфокального профиля засветки.

Однако следует отметить, что полученное значение концентрации нуждается в корректировке: необходимо прибегнуть к вычислительным методам и исправить экстремальное значение  $g(\xi, \eta)$ , экстраполируя функцию к нулевым значениям аргументов. Дело в том, что значение  $g(0,0)$  не является статистически правильным, и его нельзя использовать для расчета концентрации. Если функция распределения точечного источника в поперечном сечении для лазерного пучка задает гауссово распределение, то регистрируемая флуоресценция, собранная конфокальным объективом, имеет кумулятивное гауссово распределение [2]. Это проявляется в спрямлении профиля в районе пика, т.е. увеличивается эксцесс распределения. В качестве критерия близости профиля поверхности и аппроксимирующей кривой можно рассмотреть критерий  $\chi^2$ .

### Литература

5. Векишин Н.Л. Флуоресцентная спектроскопия биополимеров. Пущино: Фотон-век, 2006.
6. Petersen N. O., Wiseman P. W. Quantitation of Membrane Receptor Distributions by ICS: Concept and Application // Biophysical Journal. Сентябрь 1993. Т. 65. С. 1135–1146.
7. Gratton Enrico. ICS2: Image Correlation Methods for Internal Dynamics in cells. ICS and STICS // Ирвин. Октябрь 2006.
8. Гонсалес Р., Вудс Р. Цифровая обработка изображений, М.: Техносфера, 2005.